

HVA-vaccin voor paling: resultaten van een eerste pilotstudie

Olga Haenen, Marc Engelsma, Ivo Claassen en Sven Bergmann* CIDC-Lelystad en *) FLI, Insel Riems

In het najaar van 2005 is een pilotstudie gedaan in glasaal met een experimenteel Herpesvirus Anguillae-vaccin in glasaal. De eerste resultaten laten enige bescherming zien, maar ook zijn er problemen met het vaccin. Leest u over dit experiment.

HVA: de ziekte

Herpesvirus anguillae (HVA) is al lang bekend in de sector. Het veroorzaakt ziekte en sterfte bij vooral gestresste paling. Veel palingkwekers in Nederland en Duitsland hebben er last van. De sterfte kan flink oplopen, afhankelijk van andere factoren, zoals de waterkwaliteit. De paling krijgt eerst ademhalingsproblemen, een soort tijgerpatroon van bloedingen in de huid (Figuur 1), stopt met eten en inwendig zijn overal bloedingen te zien, die bloedarmoede veroorzaken, gevolgd door sterfte. HVA komt ook in het buitenwater voor in wilde paling. Oorspronkelijk is het virus in Japan aangetoond en pas sinds 1998 in Europa. Echter, in Europa zal het waarschijnlijk al langer aanwezig zijn geweest, maar was vóór 1998 nog niet aantoonbaar met de gangbare testen.

Waarom een experiment?

Naar aanleiding van herhaaldelijk optredende HVA-problemen in kwekerijen werd door de sector de behoefte aan een HVA-vaccin kenbaar gemaakt. Omdat CIDC-Lelystad het belang ervan inzag werd een experiment gepland, met als doel het testen van een

experimenteel, door verhitte gedood HVA vaccin in glasaal uit ZW-Europa. Er was al langer goed contact met het zusterlaboratorium in Duitsland (FLI, Insel Riems), waar de eerste resultaten van een HVA vaccinproef positief waren. In overleg met Dr. Sven Bergmann van het FLI werd een experiment voorbereid, dat eind 2005 werd uitgevoerd bij het CIDC-Lelystad.

De HVA-vaccinproef

Eerst werd een grote hoeveelheid HVA gekweekt op levende palingcellen. Daaruit werd door middel van verhitting een dood HVA-vaccin gemaakt. Groepen van 50 Zuid-Europese glasalen, beschikbaar gesteld door de sector, werden ermee behandeld. Na 3 weken werden de glasalen aan een grote hoeveelheid levend virus (HVA) blootgesteld via het water. Naast een groep die onverdund vaccin kreeg toegediend was er een groep, die 1:10 kreeg en een die 1:100 verdund vaccin kreeg. Ook was er een groep, die alleen vaccin kreeg en later in de proef niet aan levend virus werd blootgesteld. Daarnaast waren er controlegroepen die totaal geen vaccin en virus kregen en een die alleen aan virus werd blootgesteld, zie tabel 1.

Resultaten

Op de dag van de vaccinatie was er een negatief effect: de glasalen, die onverdund vaccin kregen raakten na anderhalf uur in een soort coma, met een hoge sterfte. Dit kwam niet door het virusmedium, de osmotische waarde, of de geleidbaarheid, maar kan met de te grote hoeveelheid lichaamsvreemde eiwitten hebben samengehangen. Vele glasaaltjes kwamen na uren weer bij, maar bleven minder actief. Dit maakte het

onverdunde experimentele vaccin niet bruikbaar voor de praktijk.

Na 21 dagen werd het levende virus toegevoegd, om de mate van bescherming te meten: zie Tabel 1.

Wat betekenen deze resultaten?

Het onverdunde experimentele vaccin resulteerde in een hoge beginsterfte, terwijl deze vaccindosering aan het eind wel de

Palinggroep	Vaccin gehad op dag 0?	Virus gehad op dag 21?	cumulatieve % sterfte op dag 42	opmerkingen
A	nee	nee	21%	negatieve controle
B	nee	Ja	50%	positieve controle
C	ja, onverdund	nee	28% #	Vaccincontrole, beginsterfte door toediening onverdund vaccin 42%
D	ja, onverdund	Ja	14% #	beginsterfte door toediening onverdund vaccin 68%
E	ja, 1:10	Ja	37%	
F	ja, 1:100	Ja	46%	

Tabel 1: proefopzet en resultaten (sterftepercentages) in een HVA-vaccinproef bij CIDC-Lelystad. Elke groep begon met 50 glasaaltjes. Een dood HVA-vaccin werd gebruikt.

#) sterfte excl. de beginsterfte: op dag 21, vlak voor blootstelling aan HVA, werden deze groepen gevaccineerde glasalen per groep aangevuld tot weer 50, allen gevaccineerd met onverdund vaccin aan het begin van de proef.

meeste bescherming bleek te geven tegen ziekte door HVA. Zowel de 1:10 en 1:100 verdunde vaccinoseringen gaven veel minder bescherming. Wellicht moet ergens tussen onverdund en 1:10 gekozen worden. Echter, productie van virus op cellijnen kan niet zomaar in zeer grote hoeveelheden. Het is dus moeilijk om genoeg laagverdund vaccin te produceren voor de praktijk. We zijn er dus nog niet.

Hoe nu verder?

Bergmann van het FLI te Insel-Riems werkt uitgebreid aan een HVA vaccin en heeft nu een nieuw project gestart, waarbij veelbelovende eerste proeven zijn gedaan bij een Duitse palingkwekerij. In overleg is besloten, dat Bergmann met de ontwikkeling van een HVA-vaccin doorgaat en wij het verder aan zijn groep overlaten. Bergmann heeft al uitgebreide contacten met de Nederlandse palingsector. Zijn E-mail adres is: sven.bergmann@rie.bfav.de

Conclusie

In een eerste pilot met een gedood HVA-vaccin in Zuid-Europese glasaal bleek het onverdunde vaccin toxisch, maar gaf dit bij de overlevende helft glasalen wel de meeste bescherming tegen het virus.

De 1:10 en 1:100 verdunningen gaven te weinig bescherming. Productie van dergelijk laagverdund virus zal qua benodigde hoeveelheden een probleem zijn. Het FLI in Insel Riems (dr. S. Bergmann) gaat met nader HVA-vaccinonderzoek door.

Referenties

- Davidse, A., O.L.M. Haenen, S.G. Dijkstra, A.P. van Nieuwstadt, T.J.K. van der Vorst, F.Wagenaar and G.J. Wellenberg, 1999. First isolation of herpesvirus of eel (*Herpesvirus anguillae*) in diseased European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Europe. *Bull. Eur.Ass.Fish Pathol.* 19, 4: 137-141.
- Haenen, O.L.M., S.G. Dijkstra, P.W. vanTulden, A. Davidse, A.P. van Nieuwstadt, F.Wagenaar, G.J. Wellenberg, 2002. Herpesvirus anguillae (HVA) isolations from disease outbreaks in cultured European eel, *Anguilla anguilla* in The Netherlands since 1996. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 22(4): 247-257.
- Ginneken, V. van, O.Haenen, K.Coldenhoff, R.Willemze, E. Antonissen, P.van Tulden, S.Dijkstra, F.Wagenaar, G.van den Thillart, 2004. Presence of virus infections in eel species from various geographic regions. Short communication, *Bulletin. Eur. Ass. Fish Pathol.* 24(5): 268-272.



Figuur 1: Paling met een HVA-infectie (foto CIDC-Lelystad).